

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Josip Bebek

6451/PT

UTJECAJ POSTUPKA PRIPREME I ZAMRZAVANJA TE
SKLADIŠTENJA NA KVALITETU KAŠE JAGODE

Završni rad

Modul: Kemija i tehnologija voća i povrća

Mentor: prof.dr.sc. Branka Levaj

Zagreb, 2016.

Ovaj rad je izrađen u okviru projekta Primjena vakuumskog hlađenja u proizvodnji hrane produljene trajnosti i svježine (V^H_T -HRANA) financiranog sredstvima Hrvatske zaklade za znanost

DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procese konzerviranja i preradu voća i povrća

UTJECAJ POSTUPKA PRIPREME I ZAMRZAVANJA TE SKLADIŠTENJA NA KVALITETU KAŠE JAGODE

Josip Bebek, 6451/PT

Sažetak :

Cilj rada je istražiti kako različiti postupci pripreme i zamrzavanja utječu na kvalitetu kaše jagode koja je skladištena kroz 4 mjeseca. Jagode nabavljene iz trgovačke mreže pripremljene su homogenizacijom nakon čega tretirani blanširanjem ili ultrazvukom. Kaša jagode zamrznute su bez ili uz primjenu visokog tlaka i skladištene na -18 °C kroz 4 mjeseca. Parametri kvalitete koji su ispitani bili su topljiva suha tvar, pH vrijednost, ukupna kiselost, boja, senzorska svojstva, antioksidacijski kapacitet te ukupni fenoli. Svi parametri određeni su prije i nakon skladištenja. Uočeno je da korišteni predtretmani te zamrzavanje uz primjenu visokog tlaka nemaju bitnog pozitivnog učinka na kvalitetu uzoraka. Pire jagode koji nije bio podvrgnut predtretmanu niti visokom tlaku zadržava parametre kvalitete najbližnije početnom uzorku.

Ključne riječi: jagoda, zamrzavanje uz visoki tlak, ultrazvuk, blanširanje, parametri kvalitete, antioksidacijski kapacitet, ukupni fenoli

Rad sadrži: 34 stranice, 6 tablica, 9 slika, 30 literaturnih navoda, 0 priloga

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je tiskan u elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u: Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *prof.dr.sc. Branka Levaj*

Pomoć pri izradi: *dr.sc. Maja Repajić*

Rad predan: srpnja 2016.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Final work

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Undergraduate studies Food technology

Department of Food engineering

Laboratory for Technology of Fruits and Vegetables Preservation and Processing

STRAWBERRY PUREE QUALITY UPON PRETREATMENT, FREEZING AND STORING

Josip Bebek, 6451/PT

Abstract:

The aim was to explore how different methods of pretreatment and freezing affect the quality of the strawberry pulp which was stored for 4 months. The strawberries were homogenized after which they were blanched or treated with ultrasound. The strawberry pulp was frozen with or without the use of high pressure and was stored at -18 °C for 4 months. The quality parameters as soluble solids, pH, total acidity, color, sensory attributes, antioxidative capacity and total phenols were analyzed before and after storage. It was observed that the different methods of pretreatment and high pressure freezing didn't have a significant impact on the quality of the samples. The strawberry pulp that wasn't pretreated nor high pressure frozen was the only one that retained most of the quality of the starting sample.

Keywords: strawberry, freezing under high pressure, ultrasound, blanching, parameters of quality, antioxidative capacity, total phenols

Thesis contains: 34 pages, 6 tables, 9 figures, 30 references, supplements

Original in: croatian

Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in: Library of the Faculty of food technology and biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

Mentor: *PhD. Branka Levaj, Full Professor*

Technical support and assistance: *PhD. Maja Repajić*

Thesis delivered: july 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. Jagoda	2
2.2. Kemijski sastav jagoda	3
2.2.1. Fenolni spojevi jagode	5
2.3. Prerada jagode	8
2.3.1. Ultrazvuk	9
2.3.2. Zamrzavanje	10
2.3.3. Zamrzavanje pod visokim tlakom	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. Materijali	13
3.2. Metoda rada i rezultati	14
3.2.1. Određivanje topljive suhe tvari	15
3.2.2. Određivanje boje pH vrijednosti.....	16
3.2.3. Određivanje ukupne kiselosti	16
3.2.4. Određivanje boje	17
3.2.5. Senzorska ocjena uzoraka pirea jagode	18
3.2.6. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom	18
3.2.7. Određivanje ukupnih fenola Folin Ciocalteu metodom	21
4. REZULTATI	24
5. RASPRAVA	27
6. ZAKLJUČAK	30
7. LITERATURA	31

1. UVOD

Jagoda je višegodišnja zeljasta biljka niskog rasta. Rano sazrijeva, razmnožava se lako i brzo te svake godine redovito rodi. Visokog je sadržaja vode i niske energetske vrijednosti, ali jako vrijedan izvor prehrambenih vlakana, antioksidansa i drugih spojeva koji imaju blagotvoran učinak na zdravlje.

Fenoli su najpoznatija nenutritivna komponenta jagode i to su spojevi koji su najviše odgovorni za povoljna svojstva jagode jer su povezani s antioksidacijskom aktivnosti te različitim fiziološkim učincima u ljudskom organizmu. Nadalje, sudjeluju u mnogim poželjnim biokemijskim procesima u plodu poput formiranja boje i okusa. Jagoda sadrži mnoštvo fenolnih spojeva, a najbrojniji i najvažniji su antocijani. Antocijani su fenolni spojevi koji su nositelji boje jagode i može se pronaći preko 25 različitih spojeva te skupine prisutnih u jagodi. Osim antocijana u jagodi se mogu naći i ostale skupine fenola poput flavonola i flavanola.

Jagoda je vrlo pokvarljivo voće stoga je potrebno pronaći postupke koji mogu produljiti rok trajanja jagode i sačuvati njezina izvorna svojstva tijekom skladištenja. Neki od tradicionalnih metoda obrade su blanširanje i zamrzavanje. No upotrebom blanširanja može doći do nepoželjnih promjena pa se traže alternativne metode, npr. ultrazvuk. Ultrazvuk je netermalna metoda koja djelovanjem na jagodu može pridonijeti očuvanju kvalitete tokom skladištenja. Zamrzavanje je metoda kojom se namirnice mogu konzervirati na praktički neograničeno vrijeme jer uslijed niskih temperatura dolazi do znatnog usporavanja kemijskih, bioloških i mikrobioloških procesa. Međutim i zamrzavanje može imati negativan utjecaj posebno na građu stanice tkiva voća. Stoga se i taj postupak nastoji unaprijediti. Jedan od načina je zamrzavanje pod utjecajem visokog tlaka čime se mijenja struktura leda koji nastaje u namirnici, a to doprinosi očuvanju staničnih struktura.

Cilj rada bio je istražiti kako različiti postupci pripreme, zamrzavanja i skladištenje utječu na parametre kvalitete pirea jagode prije i nakon skladištenja. Određivani parametri bili su topljiva suha tvar, pH vrijednosti, boja, senzorska analiza, antioksidacijska aktivnost i ukupni fenoli

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Jagoda

Jagoda se ubraja među prve voćke čije je plodove koristio čovjek. U drevnoj literaturi (Teofrast, Plinije i dr.) spominje se kao divlja, a tek u XIV st. kao kulturna. Prva je kultivirana *F. vesca* L. U njenom okviru nastao je varijetet nazvan alpska jagoda ili mjesečarka.

U XVI st. javlja se u kulturi *F. moschata* Duch. Početkom XVIII st. iz Amerike je prenijeta u Europu *F. Virginiana* Duch. U XVIII st. počelo je brzo širenje jagoda, osobito uvođenjem u kulturu jagode krupnoga ploda *F. ananassa* Duch. U literaturi XVIII st. nalaze se prvi podaci o plemenitim sortama jagoda. Procvat i masovni uzgoj jagoda osobito se očituje u XIX st uvjetovano planskom selekcijom i hibridizacijom čime su se izdvojile i stvorile visokoproduktivne i visokokvalitetne sorte (Volčević, 2005).

Jagoda je višegodišnja zeljasta biljka niskog rasta. Pripada odjeljku *Spermatophyta*, pododjeljku *Angiosperme*, razredu *Magnoliopsida*, redu *Rosales*, porodici *Rosaceae*, potporodici *Rosoideae* te rodu *Fragaria*.

Do danas je opisano 47 vrsta divljih jagoda među kojima su neke od najvažnijih *Fragaria vesca*, *F. orientalis*, *F. Maschata*, a kultiviranih sorta jagoda ima preko 2000 koje su proizašle od šest vrsta. Od svih hibrida najveći značaj za današnje jagodarstvo ima *F. ananassa* jer su od njega nastale sve današnje sorte krupnoga ploda.

Jagoda je rasprostranjena po cijeloj Europi, u Aziji, u Sjevernoj Americi i Južnoj Americi pokraj Tihog oceana. Prema S. Lozina-Lozinskom, obzirom na zemljopisnu udaljenost, različite morfološke karakteristike i mjesta nastanka, sve jagode se mogu svrstati u četiri grupe:

1. europska sa 4 vrste (Europa, zapadni Sibir, Turkmenija, Kavkaz)
 2. azijska sa 17 vrsta (istočni Sibir, istočna i srednja Azija, Japan)
 3. istočnoamerička s 8 vrsta (istočna Kanada, Ontario, Labrador do 95°E)
 4. zapadnoamerička s 18 vrsta (Aljaska do 65°N, zapadna Kanada, Britanska Kolumbija, zapadni dio Sjeverne Amerike do 95°E, Kalifornija, Ekvador, Peru, Čile)
- (Volčević, 2005)

Razmnožava se lako i brzo i svake godine redovito rodi. Rano sazrijeva i isplativ je uzgoj.

Najvećim dijelom koristi se u svježem stanju, ali mogu se preraditi u kaše, džemove, sokove, kompote i dr. Veće površine pod jagodom zahtijevaju za berbu veliki broj radne snage.



Slika 1. Jagoda (Anonymous 1, 2016)

Jagoda se po kvaliteti razvrstava u tri klase:

1. Ekstra klasa: Jagode Ekstra klase moraju biti vrhunske kvalitete i karakteristične za sortu kojoj pripadaju. Moraju biti svježije i jarke boje, ovisno o kvalitetama sorte. Moraju biti čiste od zemlje i bez nedostataka s iznimkom veoma neznatnih površinskih oštećenja.
2. Klasa I: Jagode Klase I moraju biti dobre kvalitete i karakteristične za sortu. Dopušteni su sljedeći manji nedostaci, uz uvjet da ne utječu na opći izgled proizvoda, kvalitetu, očuvanje kvalitete i izgled u pakiranju; manji nedostaci u obliku, bijela mrlja koja ne prelazi jednu desetinu površine ploda, lagani površinski tragovi pritiskanja, moraju biti gotovo čiste od zemlje.
3. Klasa II: Uključuje jagode koje ne udovoljavaju zahtjevima za Klasu I i Ekstra klasu, ali udovoljavaju minimalnim zahtjevima kvalitete. Dopušteni su sljedeći nedostaci uz uvjet kao i za Klasu II; odstupanje od oblika, bijela mrlja koja ne prelazi jednu petinu površine ploda, lagana suha nagnječenja koja se vjerojatno neće širiti, neznatni tragovi zemlje (Pravilnik o tržišnim standardima za voće i povrće, Narodne novine 149/09).

2.2. Kemijski sastav jagoda

Iako postoje službeni podaci kemijskog i nutritivnog sastava jagode, bitno je napomenuti kako je neizbježan određeni stupanj varijabilnosti u nekim parametrima sastava. Neki od razloga su razlika između kultivara, različit stupanj zrelosti u trenutku analize, uvjeti skladištenja, mnogi klimatski uvjeti i sama genetska podloga jagode.

Tablica 1. Kemijski sastav u 100 g svježe sirove jagode (USDA, 2016)

Voda	90,95 g
Energetska vrijednost	32 kcal
Proteini	0,67 g
Lipidi	0,30 g
Ugljikohidrati	7,68 g
Prehrambena vlakna	2,0 g
Ukupni šećeri	4,89 g
Saharoza	0,47 g
Glukoza	1,99 g
Fruktoza	2,44 g

Prema nutritivnom profilu, jagoda predstavlja zdrav izbor hrane. Prije svega, količina prehrambenih vlakana i fruktoze mogu doprinijeti regulaciji količine šećera u krvi usporavanjem probave pri čemu prehrambena vlakna isto tako pomažu kontroliranju unosa kalorija jer uzrokuju efekt sitosti što je veoma povoljno gledajući činjenicu da jagoda sadrži samo 32 kcal po 100 g proizvoda. U manjem opsegu jagode su izvor zdravih, esencijalnih masnih kiselina jer je ulje jagodinih sjemenki bogato nezasićenim masnim kiselinama (Giampieri, 2012).

Tablica 2. Mineralni sastav u 100 g svježe sirove jagode (USDA, 2016)

Minerali	mg/100 g
Kalcij, Ca	16 mg
Željezo, Fe	0,41 mg
Magnezij, Mg	13 mg
Fosfor, P	24 mg
Kalij, K	153 mg
Natrij, Na	1 mg
Cink, Zn	0,14 mg

Tablica 3. Sastav vitamina u 100 g svježe sirove jagode

Vitamini	Udio u 100 g
Vitamin C (Askorbinska kiselina)	58,8 mg
Tiamin B1	0,024 mg
Riboflavin B2	0,022 mg
Niacin B3	0,386 mg
Piridoksin B6	0,047 mg
Folat	24 µg
Kobalamin B12	0,00 µg

Razvio se interes za uzgoj jagoda zbog veoma visokog udjela vitamina C što jagodu čini bitnim izvorom ovog vitamina koji je važan za ljudsku prehranu. Zajedno s vitaminom C, folat ima ključnu ulogu u naglašavanju sastava mikronutrijenata jagode uzimajući u obzir da je među voćem jagoda jedan od najboljih izvora tog esencijalnog mikronutrijenta. Mnoge studije pokazale su kako je prehrana bogata voćem često asocirana smanjenom učestalošću raznih kroničnih bolesti i stanja, primjerice pretilost, infekcije, kardiovaskularne i neurološke te kancerogene bolesti. Zbog svog sastava i blagotvornog djelovanja na organizam, jagode imaju bitnu ulogu među voćem (Giampieri, 2012).

Osim nutritivnih spojeva, jagode sadrže mnoštvo nenutritivnih komponenata kao što su polifenolne fitokemikalije (flavonoidi, fenolne kiseline, lignani, tanini) koje pripadaju brojnoj skupini spojeva koji se zovu **fenoli**.

2.2.1. Fenolni spojevi jagode

Fenolni spojevi su spojevi koji uvelike doprinose senzorskim značajkama te nutritivnim obilježjima jagode. Zbog svojeg sastava imaju snažno antioksidacijsko djelovanje koje se povezuje s različitim fiziološkim učincima u ljudskom organizmu, primjerice protuupalno, antialergijsko te antikancerogeno djelovanje (Rotelli i sur., 2003).

Sudjeluju u biokemijskim promjenama koje se odvijaju tijekom zrenja i dozrijevanja voća te su uključeni u mehanizmima formiranja boje, okusa i arome svojstvene svakoj vrsti voća. Isto tako uključeni su i u različite nepoželjne procese koji nastaju tijekom prerade svježeg voća.

Okosnicu strukture fenolnih spojeva čini aromatski prsten na koji može biti direktno vezana jedna ili više hidroksilnih skupina (Bravo, 1998).

Čine jednu od najbrojnijih i široko rasprostranjenih skupina u biljnom svijetu s više od 8000 do danas poznatih različitih struktura spojeva. Zbog velike brojnosti i kompleksne strukture postoji više podjela fenolnih spojeva. Jedna od njih je podjela na flavonoide i neflavonoide među kojima se nalaze fenolne kiseline.

Flavonoidi su spojevi s osnovnom flavanskom strukturom koju čini difenilpropanski kostur C_{15} ($C_6-C_3-C_6$) koji je građen od dva benzenska prstena povezanih preko piranskog prstena koji sadrži kisik. Velika raznolikost flavonoida potječe od različitog rasporeda i broja hidroksilnih skupina koje su vezane na te spojeve, stupnju nezasićenosti i stupnju oksidacije centralnog C-prstena. U prirodi su najčešće zastupljeni kao glikozidi, a mogu postojati i u obliku slobodnih flavonoida (aglikoni) (Fenema i sur., 2007).

Promatrajući fenolne spojeve jagode, najvećim udjelom zastupljena je skupina flavonoida (najviše antocijani, a flavonoli i flavanoli minornim udjelom), slijede ih hidrolizirajući tanini (elagitanini i galotanini), fenolne kiseline (hidroksibenzojeve i hidroksicimetne kiseline) te kondenzirajući tanini (proantocijani) (Kähkönen i sur., 2001).

Snažan antioksidacijski potencijal fenolnih spojeva svojstvo je koje najviše doprinosi blagotvornim svojstvima jagode. Povezan je s prisutnošću hidroksilnih skupina fenolnih spojeva koje mogu sudjelovati kao donor elektrona ili vodika čime sprečavaju oksidaciju drugih tvari te prisutnošću konjugiranih veza u strukturi doprinose rezonancijskoj stabilizaciji zbog čega mogu nastati radikali koji su stabilni.

Antocijani su najpoznatiji i kvantitativno najzastupljeniji fenolni spojevi jagode. Oni su glavni nositelji prirodne crvene boje jagode. Osnovu strukture antocijana čini aglikon antocijanidin koji se veže sa šećerom kako bi nastala stabilnija glikozidna struktura (Wicklund i sur., 2005) u kojoj se antocijani pojavljuju u prirodi. Poznato je mnogo različitih antocijana koji se razlikuju brojem i položajem metilnih i hidroksilnim skupina na benzenskom prstenu.

Mnoge studije utvrdile su ukupnu količinu antocijana u jagodi s vrijednostima od 150 do 600 mg/kg svježje jagode. Više od 25 različitih pigmenta antocijana opisano je u jagodama različitih varijeteta i selekcija. Najzastupljeniji je pelargonidin-3-glukozid neovisno o genetskim i okolišnim faktorima. Isto tako, cijanidin-3-glukozid je antocijan koji se uvijek nalazi u jagodi, ali u manjim količinama od pelargonidin-3-glukozida. Uobičajeni supstituirajući šećer u antocijanima jagode je glukoza, no u nekim kultivarima mogu se pronaći i konjugati rutinoze, arabinoze i ramnoze (Giampieri, 2012).

Privlačna crvena boja jagode koja potječe od prisutnosti antocijana jedan je od parametara izgleda o kojima ovisi kvaliteta i jedna je od najvažnijih senzorskih karakteristika. Boja općenito je psihički doživljaj uzrokovan različitom osjetljivošću očnog živca na različite duljine svjetlosti pri čemu predmeti odbijaju svjetlost određene valne duljine, a ostatak apsorbiraju. Odbijenu svjetlost ljudsko oko registrira kao boju.

Tijekom procesa zrenja povećava se količina antocijana u jagodi i taj proces nakupljanja proporcionalan je s intenzitetom obojenja. Pokazano je kako boja voća utječe na percepciju slatkoće i okusa, a može čak i izazvati emocionalnu reakciju kod potrošača (Ornelas-Paz, 2012).

Osim antocijana, u jagodi se može pronaći mnogo drugih fenolnih spojeva, no u manjim količinama. Sastav flavonola u jagodi bio je tema više istraživanja u kojima je pronađeno kako se većina flavonola jagode nalazi u obliku derivata kvercetina. Isto tako pronađeni su i acilirani flavonoli poput kvercetin-malonilglukozida (Aaby i sur., 2007).

Flavanoli su jedina skupina flavonoida koji se ne pojavljuju kao glikozidi u prirodi. U jagodi su pronađeni kao monomeri (katehini) i polimeri (kondenzirani tanini i procijanidini). Iako ne predstavljaju visok udio u ukupnom sastavu, procijanidini se redovito nalaze u jagodi te direktno ili indirektno pokazuju dobra antioksidacijska, antimikrobna i antialergijska svojstva te inhibiraju aktivnost nekih fizioloških enzima i receptora (Santos-Buelga, 2000).

Antioksidacijski kapacitet voća usko je koreliran s prisutnosti spojeva koji neutraliziraju kisikove radikale kao što su fenolni spojevi i vitamin C. To je bitno svojstvo voća jer velika količina dokaza sugerira da je oksidacijski stres uzrok mnogih bolesti uključujući i starenje te rak, dijabetes, kardiovaskularne bolesti, Alzheimerova bolest i ostali neurodegenerativni poremećaji (Huang, 2012). Više istraživača objavilo je liste ukupnog antioksidacijskog kapaciteta (TAC) mnogih namirnica. Rezultati redovito smještaju jagode među najbolje izvore ukupnih fenola i TAC s vrijednostima koje su 4 puta veće od ostalog voća, 10 puta veće od povrća i 40 puta veće od žitarica. Bitan faktor kod određivanja TAC je individualni doprinos različitih spojeva. Pronađeno je da je vitamin C jedan od najbitnijih komponenti odgovoran za više od 30 % TAC. Slijede ga antocijani koji doprinose 25 do 40 %, a ostatak se sastoji najviše od derivata elagitanina i flavonola. Rezultati se poklapaju kod više istraživanja te su pokazatelj kako je TAC indikativan ukupnoj količini vitamina C i fenolnih spojeva u jagodi. Količina fenola i TAC u voću i povrću varira ovisno o mnogo faktora, neki od kojih se mogu kontrolirati kako bi se optimizirala kvaliteta. Sastav fenola u jagodi varira tijekom rasta i faze zrenja, a u većini slučajeva nezrela pulpa ima više fenolnih spojeva i antioksidacijski

kapacitet nego zrela pulpa. Profil antocijana se isto tako mijenja tokom zrenja, ali njihov udio se povećava tokom zrenja. U svim kultivarima antocijan se akumulira u crvenom stadiju što se podudara s crveno obojenim voćem dok su manje količine pronađene u rozom i nikakve kod zelenog voća. Antioksidacijski kapacitet varira tijekom perioda zrenja s istim trendom kao i fenolni spojevi. Suglasno s mnogim istraživanjima, TAC voća postepeno se smanjuje tijekom zrenja, a to smanjenje strogo je asocirano sa smanjenjem količine tanina, dok polarni nefenolni antioksidansi (vitamin C) imaju samo blago povećanje kod zrenja bez da utječu na trend ukupnog smanjenja. Nadalje, genetska podloga i uvjeti okoliša igraju važnu ulogu u karakteristikama jagode jer sastav mikronutrijenata i fitokemikalija bitno varira ovisno o kultivaru i kulturnim razlikama kod uzgoja (Giampieri, 2012).

Skladištenje isto tako može utjecati na profil mikronutrijenata jagode gdje je temperatura ključan faktor koji posebno utječe na stabilnost fenolnih antioksidansa u voću tijekom skladištenja. Promatrajući različite kultivare tijekom skladištenja pri 5 °C tijekom 9 dana uočene su bitne promjene u kemijskom sastavu i svojstvima jagode. Antioksidacijska aktivnost i ukupni fenoli povećavaju se tijekom skladištenja, količina topljive suhe tvari i ukupna količina šećera se smanjuje, a količina antocijana ostaje približno jednaka (Mishra, 2014). Veća količina fenola nakon skladištenja može se pripisati metabolizmu voća nakon berbe, a pozitivan utjecaj na antioksidacijski kapacitet kompleksnim reakcijama koje se događaju u periodu nakon berbe koje omogućuju nastajanje spojeva s povećanim antioksidacijskim kapacitetom iako su svojstva poput okusa i mirisa degenerirala. Općenito gledano, TAC se povećava tokom skladištenja i ostaje stabilan (Giampieri, 2012).

2.3. Prerada jagode

Jagoda je vrlo pokvarljivo voće s relativno kratkim vremenom dospijeca. Kako bi se mogla konzumirati duže vrijeme i van sezone dospijeca prerađuje se u poluproizvode i cijeli niz proizvoda. Poluproizvodi su stabilan oblik prerađenog voća koji se kao takvi skladište na odgovarajući način te se tijekom godine koriste za proizvodnju finalnih gotovih proizvoda. Poluproizvod more biti primjerice kaša koja se kasnije upotrebljava za proizvodnju džema, soka i slično. Kaša može biti konzervirana pasterizacijom uz dodatak kemijskih konzervansa (ovisno o načinu punjenja) ili zamrzavanjem. Zamrzavanju može i ne mora prethoditi termički tretman poput blanširanja. Blanširanjem se inaktiviraju enzimi i djelomično uništavaju

mikroorganizmi što dovodi do stabilizacije zamrznutog proizvoda. Međutim, samo blanširanje može zbog primijenjenih visokih temperatura (oko 80 °C) narušiti kemijski sastav sirovine, pogotovo osjetljivog voća kao što je jagoda. Iz tog razloga se u novije vrijeme ispituju alternativni postupci (netermalne metode) među koje se ubraja i ultrazvuk. Zamrzavanje isto tako može negativno utjecati na sirovinu koja se zamrzava, posebice na strukturu sirovine. Iz tog razloga pokušavaju se pronaći metode kojima će se negativan utjecaj zamrzavanja prevladati.

2.3.1. Ultrazvuk

Tradicionalne metode koje se koriste za sprečavanje neželjenih promjena na voću tijekom skladištenja mogu imati negativan učinak na nutritivni profil i kvalitetu stoga se radi na pronalasku novih metoda koje će biti učinkovitije u čuvanju izvorne kvalitete voća tijekom prerade i skladištenja. Jedna od tehnika koja se danas jako istražuje je ultrazvuk.

Općenito gledano, ultrazvuk je vrsta energije koja se generira zvučnim valovima frekvencija koje su više od onih koje ljudsko uho može detektirati (iznad 16 kHz). Djelovanje ultrazvuka na biološke strukture dovodi do kompleksnih pojava na staničnoj razini koje se mogu iskoristiti za željeni rezultat. Ovisno o parametrima poput frekvencije, snage generatora, tlaka, temperature, itd. mogu se izazvati željene pojave na namirnici koje imaju široku primjenu (Zbigniew i sur., 2007).

Namirnice poput voća su kompleksne građe s različitim vitaminima, šećerima, vlaknima, aromama, itd., a zbog takvog sastava veoma su osjetljive na temperaturu budući da na mnogim spojevima dolazi do degenerativnih promjena pod utjecajem visoke temperature. Iz tog razloga glavna prednost ultrazvuka je činjenica da se provodi pod blagim uvjerima što dovodi do uvećane efikasnosti procesa, smanjenih gubitaka i manje korištenja energije (Chemat i sur., 2010).

U jednom istraživanju promatran je utjecaj tretmana ultrazvukom na osnovne parametre kvalitete jagode gdje je pronađeno da tretiranje ultrazvukom do 90 W pokazuje više povoljnih promjena zbog kojih jagoda zadržava povoljnija svojstva nakon skladištenja, primjerice željena boja, količina topive suhe tvari, sprečavanje rasta plijesni, itd. Bitno je napomenuti da tretiranje ultrazvukom iznad 90 W izaziva negativne promjene na kvaliteti što ukazuje na važnost pronalaska idealnih parametara pri obradi (Aday, 2013).

2.3.2 Zamrzavanje

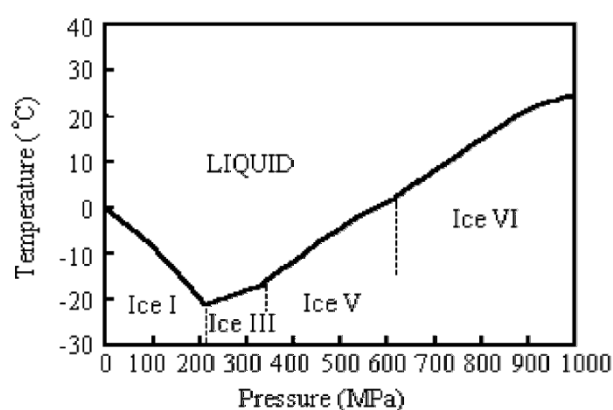
Zamrzavanje je metoda kojom se namirnice mogu konzervirati na dugo, praktički neograničeno vrijeme. Izdvajanjem vode u obliku leda i sniženjem temperature praktički se zaustavljaju kemijski, biološki i mikrobiološki procesi na čemu se bazira ova metoda. Što se više vode izdvoji u obliku kristala, to je veća stabilnost zamrznute namirnice.

Prilikom zamrzavanja može doći do većih ili manjih ireverzibilnih promjena u namirnici što je značajno u namirnicama kojima se želi održati izvorna struktura i tekstura. Te promjene posljedica su tvorbe leda, a veličina tih promjena uvjetovana je brzinom zamrzavanja. Što je zamrzavanje brže to su promjene manje i obrnuto. Tijekom zamrzavanja narušava se ravnoteža u polidisperznom sustavu stanice zbog izlaženja voda iz stanica. Posljedica toga je povećana koncentracija elektrolita, dehidracija i precipitacija koloida te izlaženje i kristalizacija vode u međustaničnim prostorima. Ta pojava izraženija je kod sporog smrzavanja. Prilikom sporog zamrzavanja nastaju veći kristali leda koji mogu i mehanički oštetiti tkivo. Zbog toga su manji kristali pokazatelj manjih promjena u namirnici što ih čini efikasnijim za proces zamrzavanja. Za namirnice koje sadrže manju količinu vode vrijeme trajanja zamrzavanja nije značajan čimbenik, ali je važno u određenom periodu proći temperaturni interval u kojem se uklanja latentna toplina zbog reduciranja mikrobiološke i enzimske aktivnosti. Isto tako važno je tokom skladištenja i transporta osigurati i održati dovoljno niske temperature bez fluktuacija.

Proces kristalizacije vode dijeli se na dvije faze; faza nukleacije (pojava centara kristalizacije) i faza rasta kristala. Nukleacija se dijeli na homogenu i heterogenu. Homogena nukleacija je nastajanje nukleusa kritične veličine kroz slučajnu agregaciju molekula i predstavlja vrlo rijedak način nukleacije. Pokretači heterogene nukleacije su strane površine ili sitne čestice čija je površinska konfiguracija slična ledu. Do rasta kristala dolazi nakon što je stvoren nukleus kritične veličine. Na brzinu rasta kristala utječu brzina ugradnje molekula vode u kristalnu strukturu leda, brzina difuzije molekula vode iz nezamrznute otopine prema površini kristala i brzina odvođenja topline. Dodatni čimbenik je temperatura koja ujedno utječe i na sve ostale (Lovrić, 2003).

2.3.3. Zamrzavanje pod visokim tlakom

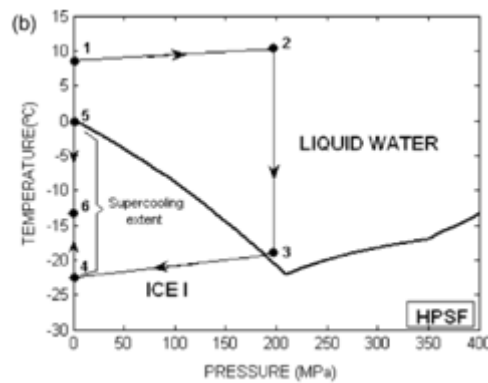
Kad se voda zamrzava pod atmosferskim tlakom, volumen se povećava. To povećanje volumena nastaje zbog formiranja leda koji ima manju gustoću od vode u tekućem stanju. Povećanje volumena je 9 % pri smrzavanju pri 0 °C i oko 13 % pri -20 °C. To uzrokuje oštećenja tkiva pri smrzavanju. Međutim, pod visokim tlakom formiraju se različite vrste leda koji imaju veću gustoću od vode. Prilikom faznog prijelaza, ledu koji je formiran pod visokim tlakom se ne povećava volumen što smanjuje oštećenja tkiva. (Li, 2002.)



Slika 2. Fazni dijagram vode

Ovisno o korištenoj temperaturi i tlaku postoje i drugi načini zamrzavanja pri kojima bi fazni dijagram vode izgledao drugačije, no u ovom radu je korišten samo prikazan način pa ostale mogućnosti nisu prikazane.

Zamrzavanje pod visokim tlakom smatra se kao obećavajuća metoda od strane prehrambene industrije ponajviše zbog potencijala za poboljšavanje kinetike procesa i karakteristike kristala leda koji se formiraju. Prema faznom dijagramu vode, mogu se razlikovati tri metode zamrzavanja pod visokim tlakom s obzirom na način na koji se vrši fazni prijelaz: zamrzavanje potpomognuto visokim tlakom (HPAF), zamrzavanje uslijed otpuštanja visokog tlaka (HPSF) i zamrzavanje potaknuto visokim tlakom (HPIF). Kod HPAF fazni prijelaz se dešava kod konstantnog tlaka, kod HPSF do faznog prijelaza dolazi zbog otpuštanja tlaka, a kod HPIF fazni prijelaz je potaknut povećanjem tlaka i nastavlja se pri konstantnom tlaku.



Slika 3. Fazni dijagram kod HPSF

HPAF vrši se kod konstantnog tlaka dok se temperatura snižava ispod odgovarajuće temperature smrzavanja. Proces je identičan tradicionalnom zamrzavanju kod atmosferskih uvjeta osim što se vrši kod visokog tlaka. Hlađenje uzorka kreće od površine do unutrašnjosti i generalno je prihvaćeno da se nukleacija leda događa samo na vanjskom dijelu uzorka koji je u direktnom kontaktu s medijom za zamrzavanje. Rezultirajući kristali su veliki, oblika igle, radijalno orijentirani i pokazuju gradijent veličine gledajući od površine do unutrašnjosti uzorka. Pritisak se oslobađa nakon uspješnog zamrzavanja.

S druge strane, kod HPSF, uzorak se hladi pod visokim tlakom pri temperaturama ispod 0 °C i drži se u nesmrznutom stanju. Kad je dostignuta željena temperatura uzorka tlak se oslobađa što uzrokuje uniformno superhlađenje kroz uzorak zbog izostatske prirode tlaka. Takvo superhlađenje uzrokuje uniformno nastajanje nukleusa u uzorku (neovisno o obliku i veličini uzorka) tako da se oslobodi latentna toplina što povećava temperaturu uzorka do odgovarajuće temperature zamrzavanja. Zamrzavanje se tada dovrši kod konstantnog pritiska uglavnom kod atmosferskih uvjeta. Što je viši tlak i niža temperatura prije ekspanzije, formira se više leda i kraće je vrijeme faznog prijelaza za određenu temperaturu na koju se hladi. Kristali koji se formiraju granularnog su oblika bez specifične orijentacije i dispergirani su po uzorku što demonstrira da se nukleacija leda tokom ekspanzije događa u cijelom produktu. (Fernandez, 2006)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

Istraživanje je provedeno s pireom jagoda nabavljenih iz trgovačke mreže u travnju 2015. godine.

Priprema pirea

Priprema pirea obuhvaćala je sljedeće operacije

- homogenizacija
- pred-tretiranje
- zamrzavanje
- pakiranje
- čuvanje uzorka

Jagode su oprane i blago prosušene. Homogenizacija od otprilike 500 g voća u svrhu pripreme pirea provedena je štapnim mikserom (Philips) u plastičnoj posudi od 1 L.

Predtretiranje se provodilo na dva načina:

Blanširanje pirea provedeno je u hermetički zatvorenoj staklenoj bočici od 300 mL (početne temperature približno 20 °C) uranjanjem u vruću vodenu kupelj u vremenu trajanja od 10 minuta. Pire se tijekom 8 minuta zagrije na 85 °C i na toj temperaturi održava 2 minute. Bočice su nakon tog vremena postupno ohlađene uranjanjem u vodene kupelji redoslijedom padajuće temperature pri čemu je prva vodena kupelj 50 °C, iduća 40 °C, 30 °C te niže.

Obrada pirea ultrazvukom vršena je na laboratorijskom uređaju Dr. Hielscher Ultrasonic Processor UP 400 (Slika 4.) uz pomoć sonde promjera 14 mm pri amplitudi 100 % u trajanju od 5 minuta. 200 mL pirea jagode tretiran je u staklenoj čaši od 400 mL uz povremeno miješanje staklenim štapićem

Nakon blanširanja i ultrazvučnog tretmana pire je prenesen u plastične bočice od 100 mL u kojima je provedeno zamrzavanje. Također je zamrznut i uzorak bez predtretiranja kao kontrolni uzorak.

Zamrzavanje se provodilo na dva načina:

- Kao kontrola provedeno je zamrzavanje u komori za zamrzavanje pri $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Everlasting S.R.L., Italija). Zamrzavanje je trajalo 120 minuta.
- Zamrzavanje visokim tlakom provedeno je u uređaju za tretiranje visokim tlakom (Slika 5.). Šest bočica stavljeno je u posudu s glikolom te izloženo hidrostatskom pritisku od 300 MPa 30 minuta prije zamrzavanja i 30 minuta nakon zamrzavanja.

Zamrznuti zapakirani uzorci stavljeni su u zamrzivač na skladištenje pri $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ tijekom 4 mjeseca, a analize su provedene prije skladištenja te nakon 4 mjeseca. U ovom radu prikazani su rezultati prije i nakon skladištenja pirea jagode.



Slika 4. (ultrazvučni tretman pirea jagode)



Slika 5. (Zamrzavanje uz visoki tlak)

3.2. Metoda rada

Tijekom istraživanja određivana su senzorska svojstva pirea te parametri fizikalno-kemijskih svojstava:

- topljiva suha tvar
- pH vrijednost
- boja
- ukupna kiselost
- ukupni fenoli
- antioksidacijski kapacitet
- senzorska svojstva

Tablica 4. Plan pokusa zamrzavanja

Uzorak	Zamrzavanje u/uz	Šifra uzorka	Skladištenje pri -18 °C analize nakon (mjeseci)	
Pire jagoda	komori (ZK)	SVJ/ZK	0	4
	primjenu visokog tlaka (ZVT)	SVJ/ZVT	0	4
Blanširani pire (BL) jagoda	komori (ZK)	BL/ZK	0	4
	primjenu visokog tlaka (ZVT)	BL/ZVT	0	4
Pire jagode tretiran ultrazvukom (UZ)	komori (ZK)	UZ/ZK	0	4
	primjenu visokog tlaka (ZVT)	UZ/ZVT	0	4

3.2.1. Određivanje topljive suhe tvari

Princip:

Refraktometrija kao analitički postupak temelji se na fizikalnom zakonu loma (refrakcije) svjetla, prema kojem se zraka svjetla koja prelazi kroz tvar lomi pod određenim kutom. Taj kut, nazvan indeks loma, uz standardne uvjete temperature i gustoće konstantne je veličine. Topljiva suha tvar može se odrediti refraktometrom izravnim očitavanjem s uređaja (Zavadlav, 2015).

Aparatura i pribor:

- refraktometar s ljestvicom za izravno očitavanje suhe tvari

Postupak:

Na početku rada refraktometar se baždari pomoću destilirane vode pri sobnoj temperaturi. Nakon toga potrebno je prenijeti uzorak na prizmu refraktometra. Uređaj direktno izmjeri količinu topljive suhe stvari te se očitava rezultat. Mjerenja su rađena tri puta za svaki uzorak, a kao konačni rezultat uzima se srednja vrijednost sva tri mjerenja.

3.2.2. Određivanje pH vrijednosti

Princip:

Ova metoda se temelji na mjerenju pH vrijednosti pomoću instrumenta tako da se uranjanjem kombinirane elektrode u homogenizirani uzorak direktno na instrumentu očita vrijednost.

Aparatura i pribor:

- čaša volumena 25 mL
- pH-metar

Postupak:

Uzorak je potrebno prenijeti u staklenu čašu volumena 25 mL. Elektroda se uroni u ispitivanu količinu uzorka te se očita pH s uređaja dok se približi konstantnoj vrijednosti.

3.2.3. Određivanje ukupne kiselosti

Princip:

Ova metoda temelji se na titraciji otopinom natrijevog hidroksida. Primjenjuje se za određivanje ukupne kiselosti u voću i povrću te proizvodima od voća i povrća.

Aparatura i pribor:

- analitička vaga
- pipeta volumena 10 mL
- odmjerna tikvica volumena 50 mL
- pH-metar
- bireta
- filter papir
- staklena čaša

Reagensi:

- otopina natrijevog hidroksida, $c = 0,1 \text{ mol/L}$
- puferna otopina poznatog pH

Postupak:

Uzorak se pripremi vaganjem 12,5 g kaše jagode koja se prenese u odmjernu tikvicu od 50 mL koja se nadopuni prokuhanom destiliranom vodom, a zatim filtrira preko filter papira. pH-metar se baždari pomoću standardne puferske otopine. Otpipetira se 10 mL filtrata u čašu, uroni elektroda pH-metra i titrira 0,1 M otopinom natrijevog hidroksida do pH = 7, a onda još polako do 8,1.

Izračun:

Ukupna kiselost dobiva se uvrštavanjem odgovarajućih podataka u sljedeću formulu:

$$UK (\%) = 50/m \times V_1 \times c \times 100/V_0 \times f$$

pri čemu su:

m = odvaga (g)

V₁ = volumen (NaOH) (mL)

c = koncentracija NaOH (0,1 mol/L)

V₀ = volumen uzorka (10 mL)

f = faktor za preračunavanje na limunsku kiselinu (f = 0,007)

Svaki uzorak titriran je dva puta, a konačni rezultat je srednja vrijednost dvije paralelne titracije.

3.2.4. Određivanje boje

Princip:

Boja je izmjerena na kolorimetru CIE LAB metodom. Ta metoda zasniva se na promatranju trodimenzionalnog prostora boja koji je temeljen na objektivnom vrednovanju boja i najbliži je vizualnoj percepciji. Mjerenjem tom metodom dobivaju se parametri L* koji izražava svjetlinu uzorka, a* koji govori o udjelu crvene boje odnosno zelene i b* o udjelu žute odnosno plave boje (Konica-Minolta, 1998).

Aparatura i pribor

- kolorimetar CM-3500d (Konica-Minolta, Japan)
- računalo
- kiveta

Postupak:

Prije svega potrebno je kolorimetar povezati s računalom jer se rezultati dobivaju u digitalnom obliku preko softwera koji je prilagođen za odgovarajući kolorimetar ili metodu. Uzorak se prenese u kivetu koja se stavi u uređaj nakon čega se dobiveni podaci prikazuju na računalu. Za svaki uzorak potrebno je raditi tri paralelna mjerenja, a konačni rezultat za parametre L^* , a^* i b^* su srednje vrijednosti paralelnih mjerenja.

3.2.5. Senzorska ocjena

Princip:

Ljudskim osjetilima odrediti senzorska svojstva boju, teksturu, okus i miris. Ocjenjivači mogu biti podučeni ili bez formalne obuke. Postoji više različitih metoda ocjenjivanja. Senzorskom analizom proizvoda dobivenih varirajući različite parametre u procesu proizvodnje može se utvrditi utjecaj proizvodnje i prihvatljivost proizvoda od strane potrošača.

Postupak:

Senzorska svojstva ocijenjena su od strane 10 ocjenjivača. Ocjenjivala su se tri parametra: izgled, okus i opća prihvatljivost. Ocjenjivači kušaju svaki uzorak i rezultate zapisuju na šifrirani listić s brojevima uzoraka. Način ocjenjivanja vrši se hedonističkom skalom od 1 do 7 pri čemu 1 predstavlja jako visoko nepoželjna svojstva, a 7 jako visoko poželjna svojstva. Senzorska analiza rađena je prije i nakon skladištenja. Kao rezultati uzete su srednje vrijednosti od svih ocjenjivača za svaki zasebni uzorak i parametar.

3.2.6. Određivanje antioksidacijskog kapaciteta DPPH metodom

Princip:

Ova metoda razvijena je za određivanje antioksidacijske aktivnosti spojeva u hrani uporabom stabilnog 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala. DPPH radikal zbog nesparenog elektrona postiže apsorpcijski maksimum u vidljivom dijelu spektra (517 nm) i ljubičaste je boje. Promjena ljubičaste boje u žutu posljedica je sparivanja nesparenog elektrona DPPH radikala s vodikom antioksidansa, stvarajući reducirani oblik DPPH-H. Promjena boje je u stehiometrijskom odnosu s brojem sparenih elektrona (Prior i sur., 2005; Braca i sur., 2001).

Aparatura i pribor:

- spektrofotometar (UV UNICAM HELIOS β)
- staklene kivete
- analitička vaga Kern ABT 220-4M
- stakleni lijevak
- pipeta, volumena 25 mL i 100 mL
- mikropipeta, volumena 1000 μ l i 500 μ l
- odmjerna tikvica, volumena 100 mL
- laboratorijske čaše, volumena 100 mL i 250 mL
- epruvete
- stalak za epruvete
- plastična lađica za vaganje
- laboratorijska žlica

Reagensi:

1. 0,5 mM otopina DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal)
2. 100 %-tni metanol
3. Mravlja kiselina

Priprema reagensa:

0,5 mM otopina DPPH

0,01 g 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikala (DPPH) odvaži se u plastičnoj lađici za vaganje te kvantitativno prenese i otopi u 100 %-tnom metanolu te nadopuni do oznake 100 %-tnim metanolom u odmjernoj tkvici od 100 mL.

Priprema ekstrakta

Od 2 g uzorka pripremi se 10 ml ekstrakta. Ekstrakcija se provodi u ultrazvučnoj kupelji koja je prethodno zagrijana na 50 °C. Otapalo za ekstrakciju je 1% otopina mravlje kiseline u 80% metanolu. Dobiveni ekstrakt centrifugira se 10 minuta pri 5500 okretaja/min, dekantira i nadopuni do 10 ml otapalom za ekstrakciju. Dobiveni ekstrakt skladišti se do analize na -18 °C u atmosferi inertnog plina. Dobiveni ekstrakti osim za određivanje antioksidacijskog kapaciteta koriste se i kod određivanja ukupnih fenola Folin Ciocalteu metodom.

Postupak određivanja

U epruvetu se otpipetira 1 mL ekstrakata, 1 mL metanola te 0,5 mL 0,5 mM otopine DPPH. Epruvete sa sadržajem stoje 20 minuta u mraku pri sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbancija pri 517 nm, uz metanol kao slijepu probu.

Za svaki pojedini uzorak napravljene su dvije paralele.

Uzorci koji prelaze vrijednost 1,0 apsorbancije potrebno je razrijediti jer su za raspon osjetljivosti spektrofotometra optimalne vrijednosti apsorbancije od 0,1 do 0,9.

Račun

Izrada baždarnog pravca

Za pripremu baždarnog pravca pripremi se 100 mL 0,02 M otopine Troloxa (6-hidroksi-2,5,6,7,8-tetrametilkroman-2-karbonska kiselina) iz koje se pripreme razrijeđenja u koncentracijama 0, 25, 50, 100, 200 i 300 μM na način da se u odmjerne tikvice volumena 50 mL redom otpipetira 0; 62,5; 125; 250; 500 i 750 μL alikvot otopine Troloxa te do oznake nadopuni 100%-tnim metanolom.

U epruvetu se otpipetira redom 200 μL odgovarajuće otopine Troloxa, 3,8 mL metanola i 1 mL 0,5 mM otopine DPPH. Sadržaj se promiješa i ostavi stajati 20 minuta u mraku na sobnoj temperaturi nakon čega se mjeri apsorbancija na 517 nm uz metanol kao slijepu probu.

Izračunavanje

Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancije otopina Troloxa nacrtat će baždarni pravac pomoću računala (program Microsoft Office Excel) s vrijednostima koncentracije Troloxa (μM) na apscisi i vrijednostima apsorbancije nanesenim na ordinati.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

$$Y = -0,0013 \times X + 0,8959$$

Y = apsorbancija uzorka pri 517 nm

X = ekvivalent Troloxa ($\mu\text{mol/L}$)

0,8959 = odsječak pravca na osi Y

Iz pripadajuće jednadžbe pravca izračuna se antioksidacijski kapacitet (X) ekstrakata na temelju izmjerenih apsorbancija određenih DPPH metodom. Dobivena vrijednost preračuna se na 100g uzorka uzevši u obzir odvagu uzorka i volumen ekstrakta.

3.2.7. Određivanje ukupnih fenola Folin Ciocalteu metodom

Princip:

Ovom metodom provodi se određivanje ukupnih fenola u etanolnom ekstraktu uzorka primjenom spektrofotometrijske metode koja se temelji na kolornoj reakciji fenola s Folin-Ciocalteu reagensom te mjerenjem nastalog intenziteta obojenja pri 765 nm (Ough i Amerine, 1998).

Aparatura i pribor:

- Spektrofotometar (UV UNICAM HELIOS β)
- Staklene kivete
- Analitička vada Kern ABT 220-4M
- Erlenmeyerova tikvica sa šlifom volumena 250 mL
- Pipete, volumena 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL i 25 mL
- Odmjerne tikvice, volumena 100 mL i 1 L
- Plastična ladica za vaganje

Reagensi:

1. Etanol, 96 %-tni
2. Etanol, 80 %-tni

Priprema: U odmjernu tikvicu od 1 L doda se 0,833 L 96 %-tnog etanola i razrijedi do oznake destiliranom vodom.

3. Folin-Ciocalteu reagens (F.C. reagens)

Priprema: Razrijeđena F.C. otopina nije postojana stoga je F.C. reagens potrebno prije upotrebe razrijediti s destiliranom vodom (1 dio reagens + 2 dijela vode).

4. Zasićena otopina natrijeva karbonata

Priprema: 200 g anhidrida natrijeva karbonata otopi se u 800 mL vruće destilirane vode, a potom ohladi na sobnu temperaturu. Doda se nekoliko kristalića natrijeva karbonata, nadopuni u odmjernoj tikvici od 1000 mL i nakon 24 h filtrira.

5. Standard galne kiseline

Priprema: Odvaži se 500 mg galne kiseline u plastičnoj ladici za vaganje te se pomoću 10 mL 96 %-tnog etanola kvantitativno prenese u odmjernu tikvicu volumena 100 mL i otopi u datom volumenu, a potom se do oznake nadopuni destiliranom vodom.

Priprema uzorka:

Korišteni su ekstrakti čija je priprava objašnjena kod određivanja DPPH metodom.

Postupak određivanja

U odmjernu tikvicu od 25 mL otpipetira se redom 0,125 mL ekstrakta, 7,5 mL destilirane vode i 0,625 mL F.C. reagensa. Sve skupa se promiješa. Pripremljenoj smjesi doda se 1,875 mL zasićene otopine natrijeva karbonata, a potom se uzorci termostatiraju 20 minuta pri $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (u kupelji). Nakon toga mjeri se apsorbancija (optička gustoća otopine) pri valnoj duljini 765 nm. Na isti način pripremi se i slijepa proba, ali se umjesto ekstrakta uzima 80 %-tni etanol.

Izračun i izrada baždarnog pravca

Za pripremu baždarnog pravca odvaže se 0,5 mg galne kiseline. Odvaga se otopi u 10 mL 96 %-tnog etanola u odmjernoj tikvici od 100 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Od te otopine galne kiseline rade se razrijeđenja u odmjernim tikvicama od 100 mL tako da se otpipetira redom 0, 1, 2, 3, 5 i 10 mL alikvota standardne otopine galne kiseline u svaku tikvicu i potom se nadopunjavaju do oznake destiliranom vodom. Koncentracije galne kiseline u tim tikvicama iznose 0, 50, 100, 150, 250 i 500 mg/L. Iz svake tikvice otpipetira se 0,25 mL otopine standarda u odmjerne tikvice od 25 mL. Potom se dodaje redom 15 mL destilirane vode, 1,25 mL F.C. reagensa i 3,75 mL zasićene otopine natrijeva karbonata. Sve se izmiješa i uzorci se potom termostatiraju 20 minuta pri $T = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (u kupelji). Nakon toga mjeri se apsorbancija pri valnoj duljini 765 nm. Na isti način pripremi se i slijepa proba, ali se umjesto otopine standarda uzima destilirana voda. Iz izmjerenih vrijednosti apsorbancija nacrtava se baždarni pravac pomoću programa Microsoft Excel pri čemu su na apscisi nanosene koncentracije galne kiseline (mg/L), a na ordinati izmjerene vrijednosti apsorbancije pri 765 nm. Koncentracija ukupnih fenola izračunava se prema dobivenoj jednadžbi pravca.

Na temelju dobivenih rezultata, jednadžba pravca glasi:

$$Y = 0,0014 X + 0,2318$$

Iz pripadajuće jednadžbe pravca izračunava se količina ukupnih fenola (X) ekstrakta na temelju izmjerenih apsorbancija određenih F.C. metodom. Dobivena vrijednost preračunava se na 100 g uzorka uzevši u obzir odvagu uzorka i volumen ekstrakta.

Y - apsorbancija pri 765 nm

X - koncentracija galne kiseline (mg/L)

0,2318 = odsječak pravca na osi Y

Dobivena vrijednost preračuna se na 100 g uzorka uzevši u obzir odvagu uzorka i volumen ekstrakta.

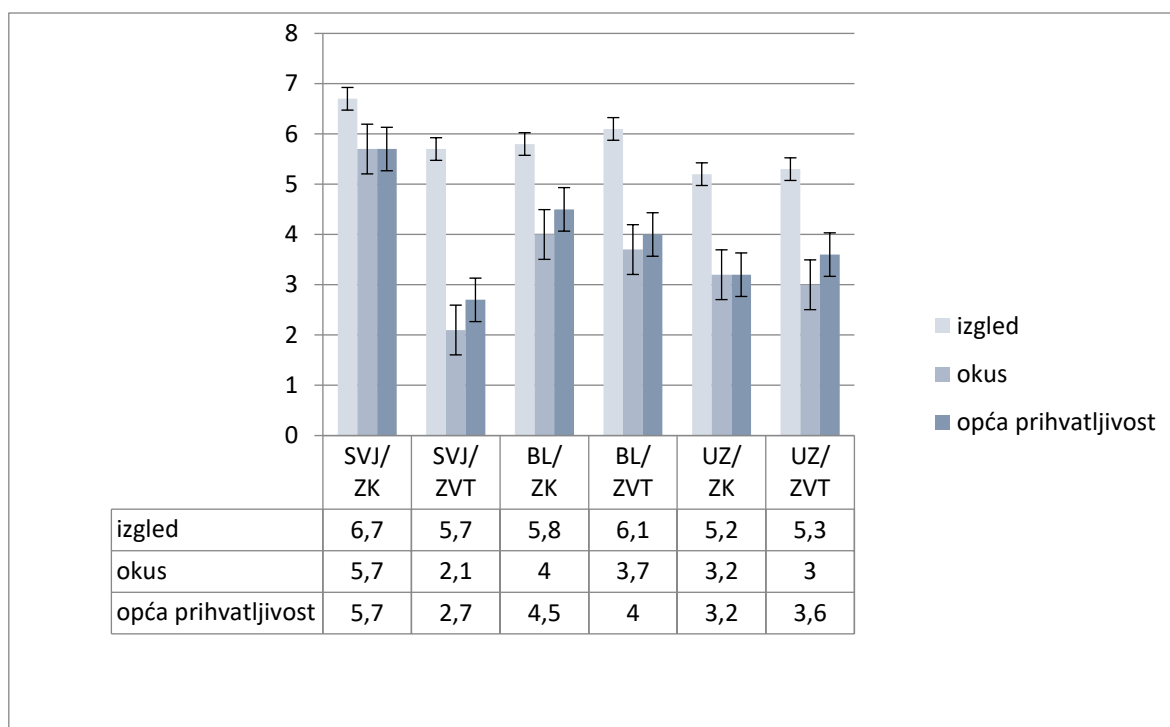
4. REZULTATI

Tablica 5. Udio topljive suhe tvari, pH i ukupne kiselosti u uzorcima smrznutih pirea jagoda

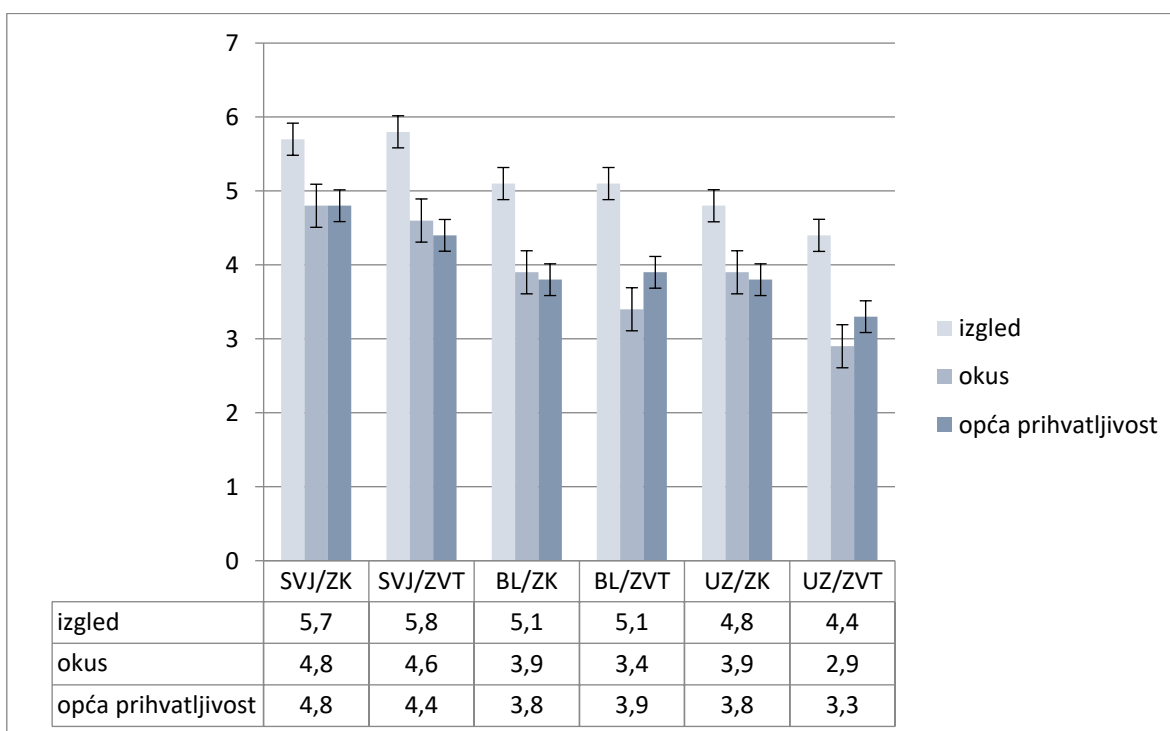
UZORAK	ZAMRZAVANJE u/uz	Skladištenje (mjeseci)	SUHA TVAR (%)	pH	UKUPNA KISELOST (%)
Pire jagoda	komori	0	6,7±0,1	3,46	0,53±0,00
		4	6,6±0,1	3,42	0,80±0,04
	primjenu visokog tlaka	0	8,4±0,2	3,43	0,83±0,00
		4	6,7±0,1	3,46	0,73±0,02
Blanširani pire jagoda	komori	0	6,6±0,1	3,43	0,52±0,01
		4	6,7±0,1	3,42	0,77±0,02
	primjenu visokog tlaka	0	6,7±0,0	3,40	0,79±0,01
		4	7,0±0,1	3,42	0,73±0,02
Pire jagode tretiran ultrazvukom	komori	0	6,5±0,2	3,51	0,71±0,02
		4	6,2±0,1	3,47	0,74±0,02
	primjenu visokog tlaka	0	7,2±0,0	3,48	0,75±0,00
		4	6,6±0,2	3,44	0,74±0,02

Tablica 6. Parametri boje uzoraka smrznutog pirea jagode

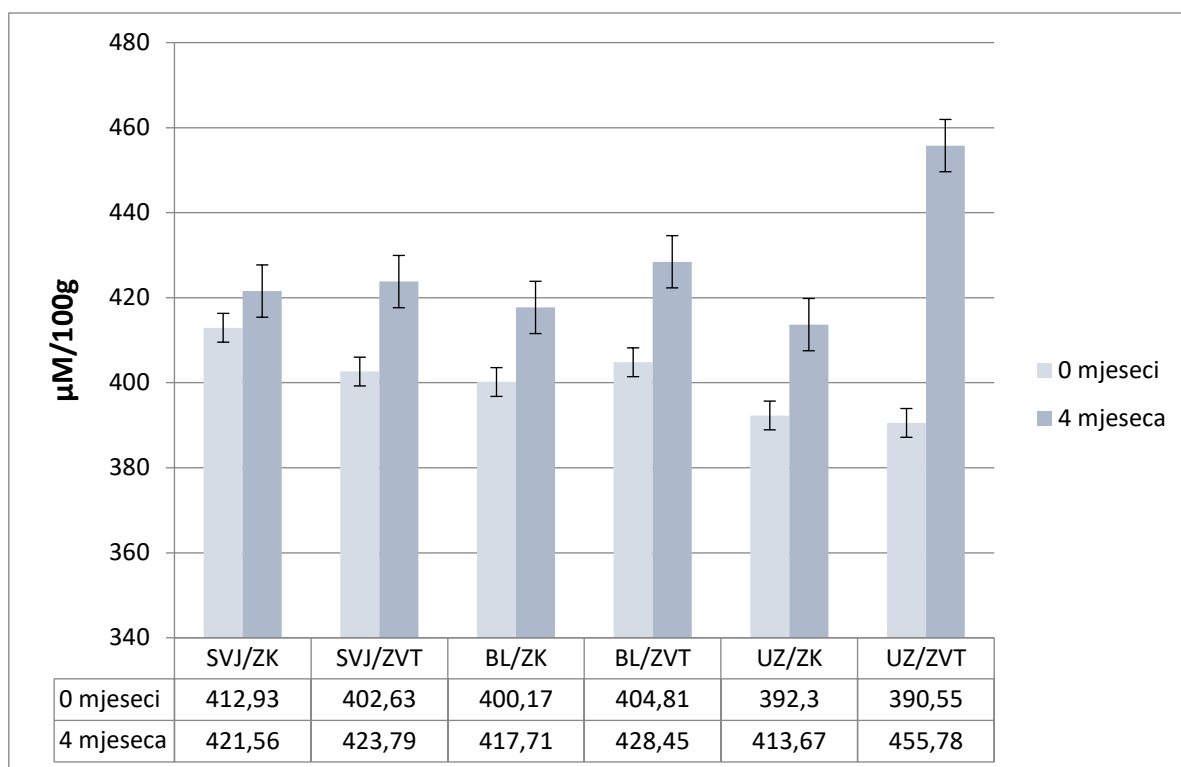
Uzorak	Zamrzavanje u/uz	Skladištenje	L*	a*	b*
Pire jagoda	komora	0	28,46±0,01	38,24±0,04	20,72±0,19
		4	30,61±0,16	36,25±0,21	16,77±0,25
	primjenu visokog tlaka	0	28,00±0,00	38,63±0,09	22,23±0,16
		4	26,67±0,00	36,96±0,01	19,01±0,03
Blanširani pire jagoda	komori	0	32,02±0,11	37,64±0,41	20,55±0,37
		4	35,47±0,39	35,97±0,42	16,34±0,29
	primjenu visokog tlaka	0	31,21±0,07	37,90±0,05	20,63±0,06
		4	28,08±0,01	31,63±0,03	14,02±0,04
Pire jagode tretiran ultrazvukom	komori	0	31,82±0,01	37,82±0,01	20,21±0,06
		4	32,69±0,30	34,49±0,27	16,95±0,17
	primjenu visokog tlaka	0	32,57±0,01	38,02±0,04	20,10±0,00
		4	33,70±0,11	37,60±0,13	18,23±0,14



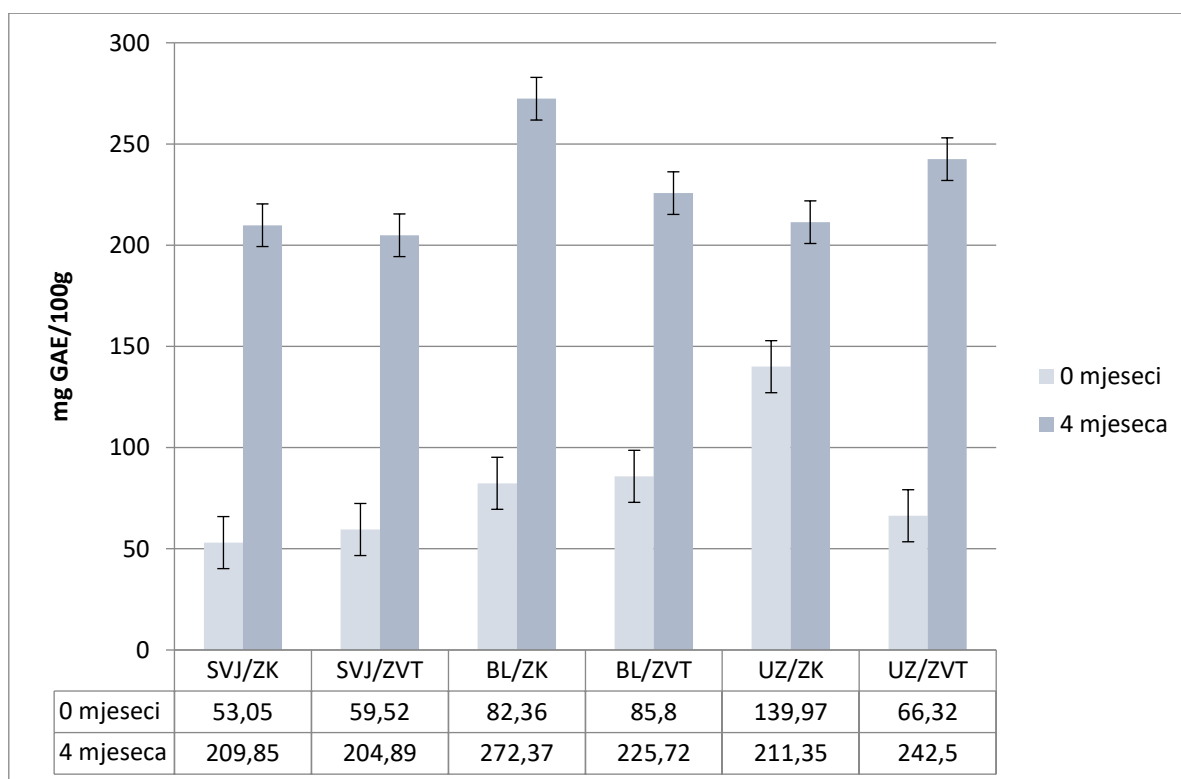
Slika 6. Ocjena senzorskih svojstava u uzorcima prije skladištenja



Slika 7. Ocjena senzorskih svojstava u uzorcima nakon skladištenja



Slika 8. Antioksidacijski kapacitet uzoraka pirea jagode prije i nakon skladištenja



Slika 9. Ukupni fenoli u uzorcima prije i nakon skladištenja

5. RASPRAVA

Topljiva suha tvar, pH i ukupna kiselost prije i nakon skladištenja:

Promatrajući dobivene rezultate primijećene su neke promjene na ovim parametrima kvalitete. Za topljivu suhu tvar vidi se da je došlo do smanjenja u većini uzoraka. Jedina iznimka su uzorci s predtretmanom blanširanja kod kojih se količina topljive suhe tvari blago povećala. Kod ukupne kiselosti primijećen je pad vrijednosti kod svih uzoraka koji su bili zamrzavani uz primjenu visokog tlaka, a kod uzoraka smrzananih bez primjene visokog tlaka dolazi do blagog pada ukupne kiselosti. Postoji korelacija između ukupne kiselosti i izmjerenog pH pri čemu je porast ukupne kiselosti popraćen smanjenjem pH vrijednosti, a kod smanjenja ukupne kiselosti povećanjem pH vrijednosti. Najmanje promjena u odnosu na početne uzorke primijećeno je u pireu jagode SVJ/ZK i BL/ZK. Galoburda i sur. (2014) mjereći topljivu suhu tvar i pH vrijednost zaključuju da zamrzavanje i skladištenje smanjuju njihove vrijednosti, međutim kod mjerenja ukupne kiselosti odredili su veće vrijednosti nakon zamrzavanja i skladištenja. Razlike se mogu pripisati različitim kultivarima jagode te duljini skladištenja.

Boja:

Kod određivanja parametara boje rezultati pokazuju da svi uzorci koji su bili podvrgnuti nekom predtretmanu imaju veću L^* vrijednost od početnog uzorka prije skladištenja, a tijekom skladištenja L^* vrijednost se dalje povećava u svim uzorcima osim SVJ/ZVT i BL/ZVT. Gledajući parametre a^* i b^* , najveće vrijednosti prije skladištenja pokazuje uzorak SVJ/ZVT, a tokom skladištenja došlo je do manjih smanjenja vrijednosti u svim uzorcima bez jasne pravilnosti ovisno o metodi predtretmana i načina zamrzavanja. Gössinger i sur. (2008) svojim istraživanjem došli su do zaključka da odgovarajući tretman pasterizacijom može povoljno utjecati na stabilizaciju parametara boje tokom skladištenja pri čemu su promatrali vrijeme i temperaturu pasterizacije.

Senzorska ocjena uzoraka:

Kod senzorske analize vršene prije skladištenja rezultati pokazuju negativan utjecaj predtretmana kod svih uzoraka na izgled, okus i opću prihvatljivost ako se uspoređuje s uzorkom SVJ/ZT koji nije bio tretiran prije zamrzavanja i skladištenja te ima najveću ocjenu za sva tri parametra. Općenito gledano prije skladištenja najlošije je ocijenjen uzorak SVJ/ZVT. Promatrajući rezultate nakon skladištenja vidi se da su manje ocjene kod svih uzoraka i parametara osim kod uzoraka SVJ/ZVT kojem su se znatno povećale ocjene okusa i opće prihvatljivosti te UZ/ZK kojem su se u manjoj mjeri povećali okus i opća prihvatljivost. Iako najveće ocjene nakon 4 mjeseca skladištenja ima uzorak SVJ/ZK, ipak je u njemu zabilježena najveća razlika od početnih ocjena. Za gotovo sve ostale uzorke smanjenje ocjena je znatno manje, a u gore navedenim došlo je i do povećanja ocjena. S tim u vezi, može se primijetiti da primijenjeni predtretmani doprinose očuvanju senzorskih svojstava, što bi možda došlo do većeg izražaja pri duljem periodu skladištenja. U skladu s time su i rezultati Osorio i sur. (2008) koji su određivali između ostalog senzorsku ocjenu pirea jagode koji je bio tretiran pasterizacijom i skladišten pri temperaturi od 3 °C pri čemu su ocjene nakon skladištenja 2 mjeseca bile neznatno manje od svježeg pirea.

Antioksidacijski kapacitet i ukupni fenoli:

Može se sagledati utjecaj predtretmana na antioksidacijski kapacitet i ukupne fenole te njihove konačne vrijednosti nakon skladištenja. Rezultati prije skladištenja govore da postupak pripreme nema izrazit utjecaj na antioksidacijski kapacitet, ali ipak su vrijednosti svih tretiranih uzoraka neznatno niže od početnog uzorka pri čemu najnižu vrijednost ima uzorak UZ/ZVT. Kod fenola je primijećen obrnuti trend pri čemu svi uzorci koji su bili tretirani prije skladištenja imaju veću vrijednost od početnog uzorka, a najveću vrijednost pokazuje uzorak UZ/ZK. Tijekom skladištenja došlo je do porasta antioksidacijske vrijednosti kod svih uzoraka, posebice kod uzoraka koji su bili podvrgnuti zamrzavanju pod visokim tlakom. Ukupni fenoli su se nakon skladištenja višestruko uvećali, a najveće vrijednosti ukupnih fenola su u uzorcima BL/ZK i UZ/ZVT u kojem je ujedno određen i najviši antioksidacijski kapacitet. Hartmann i sur. (2008) isto tako dolaze do zaključka da tretmanom jagode, primjerice pasterizacijom dolazi do smanjenja antioksidacijskog kapaciteta što znači da treba težiti što manjem procesiranju i osigurati brzinu i efikasnost tretmana.

Van Buggenhout i sur. (2007) istraživali su utjecaj visokog tlaka kod formiranja kristala prilikom smrzavanja jagode u kojem dolaze do zaključka da pod utjecajem visokih tlakova iznad 200 MPa pri temperaturi -25 °C dolazi do razaranja stanične strukture jagode. To nam govori da iako visoki tlak može služiti kao način za produljenje trajnosti, postoji rizik od negativnih promjena koje će utjecati na kvalitetu jagode te je zbog toga važno pronaći idealne parametre ovisno o metodi ili uzorcima.

Aday i sur. (2012) promatrali su kako primjena ultrazvuka djeluje na svojstva i trajnost jagode. Kao i kod visokog tlaka, pronađeno je da je najbitniji faktor koristiti odgovarajuće parametre pri tretiranju, primjerice ultrazvuk snage između 30 i 60 W. Ultrazvukom veće snage dolazi do neželjenih promjena na kvaliteti jagode

Teško je napraviti valjanu usporedbu sa sličnim radovima zbog razlika u kultivaru jagode, stupnju zrelosti tokom ubiranja, klimi na kojoj su uzgojene te ostalim faktorima koji mogu utjecati na sam sastav kvalitete. Usprkos tome, može se doći do općenitih zaključaka vezano uz korištene metode.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih podataka za parametre kvalitete pirea jagode koji su bili bez predtretmana, tretirani ultrazvukom ili tretirani blanširanjem te zamrznuti bez ili pod utjecajem visokog tlaka te skladišteni kroz 4 mjeseca može se zaključiti:

1. Općenito, ispitivani postupci negativno utječu na promjene ispitivanih parametara kvalitete i to topljive suhe tvari, pH vrijednosti i ukupne kiselosti. Uzorak SVJ/ZK nakon skladištenja sačuvao je vrijednosti parametara kvaliteta najbližije početnom uzorku.
2. Kod određivanja parametara boje, predtretman i skladištenje negativno utječu na a^* i b^* vrijednosti, a L vrijednost je uvećana kod tretiranih uzoraka te nakon skladištenja osim u uzorcima SVJ/ZVT i BL/ZVT.
3. Prema rezultatima senzorske analize, predtretman negativno utječe na izgled, okus i opću prihvatljivost kod svih uzoraka. Skladištenje isto tako utječe na smanjenje ocjena kod svih uzoraka osim SVJ/ZVT kod kojeg su znatno uvećane ocjene okusa i opće prihvatljivosti te UZ/ZK kojem su se u manjoj mjeri povećale ocjene okusa i opće prihvatljivosti.
4. Postupci predtretmana utječu na neznatno smanjenje antioksidacijskog kapaciteta, a tijekom skladištenja dolazi do porasta antioksidacijskog kapaciteta kod svih uzoraka pri čemu najveću vrijednost pokazuje uzorak UZ/ZVT.
5. Količina ukupnih fenola veća je kod uzoraka podvrgnutih nekom predtretmanu gdje je najveća u uzorku UZ/ZK. Nakon skladištenja količina ukupnih fenola višestruko se povećava s najvećom vrijednosti u uzorcima BL/ZK i UZ/ZVT.

7. LITERATURA

1. Aaby, K., Ekeberg, D., Skrede, G. (2007) Characterization of phenolic compounds in strawberry fruits by different HPLC detectors and contribution of individual compounds to total antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* **55**, 4395-406.
2. Aday, M.S., Temizkan, R., Büyükcın, M.B., Caner, C. (2013) An innovative technique for extending shelf life of strawberry: Ultrasound. *Food. Sci. Technol.* **52**, 93-101.
3. Anonymous 1. (2016) Jagoda <<http://www.pogodak.rs/blog/wp-content/uploads/2013/07/Proizvodnja-jagoda-u-plasticima.jpg>> Pristupljeno 27. travnja 2016.
4. Braca, A., De Tomassi, N., Di Bari, L., Pizza, C., Politi, M., Morelli, I. (2001) Antioxidant principles from *Bauhinia terapotensis*. *J. Nat. Prod.* **64**, 892-895. doi: 10.1021/np0100845
5. Bravo, L. (1998) Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutr. Rev.* **56**, 317-333.
6. Chemat, F., Huma, Z., Khan, M.K. (2011) Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrason. Sonochem.* **18**, 813-835.
7. Damodaran, S., Parkin, K.L., & Fennema, O.R. (Eds.) (2007) *Food. Chem.* CRC press.
8. Dolatovski, Z.J., Stadnik, J., Stasiak, D. (2007) Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* **6**, 89-99.

9. Fernández, P.P., Otero, L., Guignon, B., Sanz, P.D. (2006) High-pressure shift freezing versus high-pressure assisted freezing: Effects on the microstructure of a food model. *Food. Hydrocolloid.* **20**, 510-522.
10. Galoburda, R., Boca, S., Skrupskis, I., Seglina, D. (2014) Physical and chemical parameters of strawberry puree. *FOODBALT-2014*.
11. Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J., Quiles, J., Mezzeti, B., Battino, M. (2012) The strawberry: Composition, nutritional quality, impact on human health. *Nutrition* **28**, 9-19
12. Gössinger, M., Ullram, T., Hermes, M., Wendelin, S., Berghold, S., Halbwirth, H., Stich, K., Berghofer, E. (2008) Effects of pre-freezing, puree content and pasteurisation regime on colour stability of strawberry nectar made from puree. *J. Sci. Food. Agric.* **89**, 144-149.
13. Hartmann, A., Patz, C.D., Andlauer, W., Dietrich, H., Ludwig, M. (2008) Influence of processing on quality parameters of strawberries. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 9484-9489.
14. Huang, W.Y., Zhang, H.C., Liu, W.X., Li, C.Y. (2012) Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry and strawberry in Nanjing. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* **2**, 94-102. doi: 10.1631/jzus.B1100137
15. Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Heinonen, M. (2001) Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 4076-4082.
16. Li, B., Sun, D.W. (2002) Novel methods for rapid freezing and thawing of foods - a review. *J. Food. Eng.* **54**, 175-182.
17. Lovrić, T. (2003) Procesi u prehrambenoj industriji, HINUS, Zagreb

18. Mishra, R., Kar, A. (2014) Effect of storage on the physiochemical and flavour attributes of two cultivars of strawberry cultivated in northern India. *ScientificWorldJournal*. **2**, doi: 10.1155/2014/794926
19. Ornelas-Paz, J., Yahia EM, Ramírez-Bustamante, N, Pérez-Martínez, JD., Escalante-Minakata, P., Ibarra-Junquera, V., Acosta-Muñiz, C., Guerrero-Prieto, V., Ochoa-Reyes, E. (2012) Physical attributes and chemical composition of organic strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch, Cv. Albion) at six stages of ripening. *Food Chem.* **138**, 372-381. doi: 10.1016/j.foodchem.2012.11.006.
20. Osorio, O., Martinez-Navarette, N., Moraga, G., Carbonell, J.V. (2008) Effect of thermal treatment on enzymatic activity and rheological and sensory properties of strawberry purees. *Food. Sci. Tech. Int.* **14**, 103-108.
21. Ough, C.S., Amerine, M.A. (1998) Methods for analysis of musts and wine. *John Wiley & Sons. Inc., New York*, pp. 196-221.
22. Pravilnik o tržišnim standardima za voće i povrće (2009) *Narodne novine* **149**, Zagreb (NN 149/09).
23. Prior, R.L., Wu, X., Schaich, K. (2005) Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agric. Food. Chem.* **53**, 4290-4302. doi: 10.1021/jf0502698
24. Rotelli, A.E., Guardia, T., Juárez, A.O., De La Rocha, N.E., Pelzer, L.E. (2003) Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. *Pharmacol. Res.* **48**, 601-606.
25. Santos-Buelga, C., Scalbert, A. (2000) Proanthocyanidins and tannin-like compounds - nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. *J. Sci. Food. Agr.* **80**, 1094-1117. doi: 10.1002/(SICI)1097-0010(20000515)80:7<1094::AID-JSFA569>3.0.CO;2-1

26. USDA (2016) United States Department of Agriculture - Natural Resources Conservation Service
<<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2385?fgcd=&manu=&lfacet=&format=&count=&max=35&offset=&sort=&qlookup=strawberry>> Pristupljeno 25. travnja 2016.
27. Van Buggenhout, S., Van Loey, G.A., Hendrickx, M. (2007) Effect of high-pressure induced ice I/ice III-transition on the texture and microstructure of fresh and pretreated carrots and strawberries. *Food. Res. Int.* **40**, 1276-1285.
28. Volčević, B. (2005) Jagoda, malina, kupina, NERON, Bjelovar
29. Wicklund, T., Rosenfeld, H.J., Martinsen, B.K., Sundfor, M.W., Lea, P., Bruun, T., Blomhoff, R., Haffner, K. (2005) Antioxidant capacity and colour of strawberry jam as influenced by cultivar and storage conditions. *Food. Sci. Technol.* **38**, 387-391.
30. Zavadlav, S. (2015) Priručnik za vježbe iz kolegija "Tehnologija bezalkoholnih pića", Veleučilište u Karlovcu, Karlovac